

(51) Int. Cl.

C 0 7 D 231/14 (2006.01)
 A 6 1 K 31/415 (2006.01)
 A 6 1 K 31/5377 (2006.01)
 A 6 1 P 35/00 (2006.01)
 A 6 1 P 31/14 (2006.01)

F I

C 0 7 D 231/14 C S P
 A 6 1 K 31/415
 A 6 1 K 31/5377
 A 6 1 P 35/00
 A 6 1 P 31/14

テーマコード(参考)

4 C 0 8 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全24頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2006-506168(P2006-506168)
 (86) (22) 出願日 平成16年4月23日 (2004.4.23)
 (85) 翻訳文提出日 平成17年11月17日 (2005.11.17)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2004/001740
 (87) 国際公開番号 W02004/096212
 (87) 国際公開日 平成16年11月11日 (2004.11.11)
 (31) 優先権主張番号 0309637.7
 (32) 優先日 平成15年4月28日 (2003.4.28)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

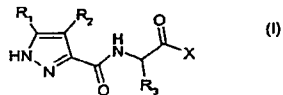
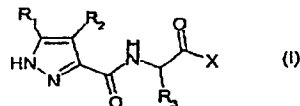
(71) 出願人 504236215
 ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド
 VERNALIS (CAMBRIDGE)
 LIMITED
 イギリス、ケンブリッジ シービー1 6
 ジービー、アビントン、グランタ パーク
 (番地なし)
 Granta Park, Abington,
 Cambridge CB1 6GB
 , United Kingdom

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ガンの処置のためのHSP90阻害剤としてのピラゾール化合物

(57) 【要約】

式(1)の化合物はHSP90活性の阻害剤であり、ガンのような増殖疾患の処置に有用である[式中、 R_1 、 R_2 及び R_3 は本明細書中で定義されたとおりであり、Xは、 $-OR_4$ 又は $-NR_4R_5$ (ここで、 R_4 及び R_5 は独立して、水素又は任意に置換していてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキルであるか、又は R_4 及び R_5 は、これらが付着している窒素と一緒に、5～8の環原子を有する任意に置換していてもよい窒素含有環を形成する)である]。

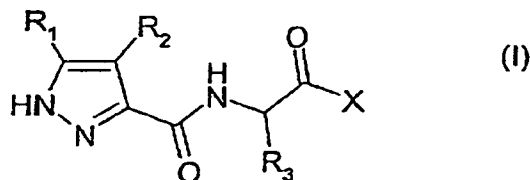


【特許請求の範囲】

【請求項1】

HSP90活性の阻害のための組成物の製造における式(I)：

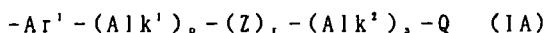
【化1】



10

【式中、

R_1 は、式 (IA)：



(ここで、任意の矛盾しない組合せで、

Ar^1 は、任意に置換していてもよいアリール又はヘテロアリール基であり、

Alk^1 及び Alk^1 は、任意に置換していてもよい二価の $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキレン又は $\text{C}_2 \sim \text{C}_6$ アルケニレン基であり、

p 、 r 及び s は、独立して 0 又は 1 であり、

Z は、 $-\text{O}-$ 、 $-\text{S}-$ 、 $-(\text{C}=\text{O})-$ 、 $-(\text{C}=\text{S})-$ 、 $-\text{SO}_2-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^A-$ 、 $-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^A-$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^A-$ 、 $-\text{NR}^A\text{C}(=\text{O})-$ 、 $-\text{NR}^A\text{SO}_2-$ 又は $-\text{NR}^A-$ (ここで、 R^A は水素又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルである) であり、そして

Q は、水素又は任意に置換していてもよい炭素環式若しくは複素環式基である)の基であり、

R_2 は、(i) R_1 に関して定義したとおりの式 (IA) の基；

(ii) カルボキサミド基；又は

(iii) 非芳香族炭素環又は複素環 (ここで、環炭素及び/又は環窒素は、式 $-(\text{Alk}^1)_p-(\text{Z})_r-(\text{Alk}^1)_s-\text{Q}$ (ここで、 Q 、 Alk^1 、 Alk^1 、 Z 、 p 、 r 及び s は、基 (IA) に関して上記で定義したとおりである) の基により任意に置換されていてもよい) であり；そして

R_3 は、水素、又はメチル、エチル、 n -若しくはイソプロピル (このいずれもがヒドロキシによって任意に置換していてもよい) であり；

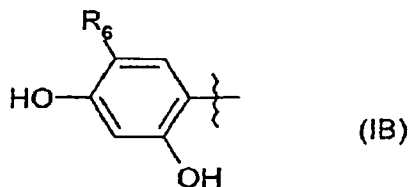
X は、 $-\text{OR}_4$ 又は $-\text{NR}_4\text{R}_5$ (ここで、 R_4 及び R_5 は独立して、水素又は任意に置換していてもよい $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであるか、又は R_4 及び R_5 は、これらが付着している窒素と一緒に、5～8 の環原子を有する任意に置換していてもよい窒素含有環を形成する) である] の化合物又はその塩、 N -酸化物、水和物若しくは溶媒和物の使用。

30

【請求項2】

式 (I) の化合物において、 R_1 が式 (IB)：

【化2】



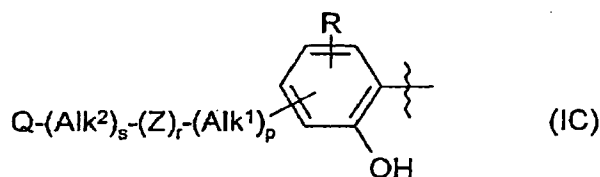
40

【式中、 R_6 は、クロロ、ブロモ、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル又はシアノである] を有する請求項 1 に記載の使用。

【請求項3】

式 (I) の化合物において、 R_1 が式 (IC)：

【化 3】



【式中、 Alk^1 、 Alk^2 、 p 、 r 、 s 、 Z 及び Q は、式(IA)に関して請求項1で定義したとおりであり、 R は1又はそれ以上の任意の置換基を表す】を有する請求項1に記載の使用。

【請求項4】

10

R がフェニル環の4位において $-\text{OH}$ であり、置換基 $-(\text{Alk}^1)$ 、 $-(Z)$ 、 $-(\text{Alk}^2)$ 、 $-Q$ がフェニル環の5位にある請求項2に記載の使用。

【請求項5】

r が0であり、 Q が水素又は任意に置換されていてもよいフェニルである請求項4に記載の使用。

【請求項6】

s が0であり、 p が1であり、 Alk^1 が未置換で二価の $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキレン又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルケニレン基である請求項5に記載の使用。

【請求項7】

Alk^1 が $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 又は $-\text{CH}=\text{CH}-$ である請求項5に記載の使用。

20

【請求項8】

p 、 r 及び s が各々0である請求項4に記載の使用。

【請求項9】

R_1 が、メトキシ、エトキシ、メチレンジオキシ、エチレンジオキシ、フルオロ、クロロ、ブロモ又はトリフルオロメチルの1又はそれ以上により任意に置換されていてもよいフェニル、2-、3-若しくは4-ピリジル、2-若しくは3-フラニル、2-若しくは3-チエニル又はチアゾリルである請求項1～8のいずれか1項に記載の使用。

【請求項10】

R_2 が、任意に置換されていてもよいフェニルである請求項1～8のいずれか1項に記載の使用。

30

【請求項11】

R_2 が、4位において、(i) $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルコキシ、例えばメトキシ又はエトキシ、フルオロ、クロロ、ブロモ、モルホリノメチル、ピペラジノ、 N -メチルピペラジノ又はピペリジノ、(ii)任意に置換されていてもよい $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、例えば、任意に置換されていてもよいメチル、エチル、 n -プロピル又はイソ-プロピル、(iii)任意に置換されていてもよいモルホリノ $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、チオモルホリノ $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、ピペラジノ $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル、メチルピペラジノ $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル又はジエチルアミノ、(iv) $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}^A$ 、 $-\text{NR}^A\text{R}^B$ 、 $-\text{NHCOR}^A$ 、 $-\text{NHCOOR}^A$ 、 $-\text{NR}^B\text{COOR}^A$ 、 $-\text{NHSO}_2\text{OR}^A$ 、 $-\text{NR}^B\text{SO}_2\text{OR}^A$ 、 $-\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{NR}^A\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NHCONHR}^B$ 、 $-\text{NR}^A\text{CONHR}^B$ 、 $-\text{NHCONR}^A\text{R}^B$ 又は $-\text{NR}^A\text{CONR}^A\text{R}^B$ (ここで、 R^A 及び R^B は独立して($\text{C}_1 \sim \text{C}_6$)アルキル基である)、或いは(v)任意に置換されていてもよいピペリジノ、ピペラジノ、モルホリノ又はチオモルホリノにより置換されているフェニルである請求項1～8のいずれか1項に記載の使用。

40

【請求項12】

R_2 が式 $-\text{CONR}^B(\text{Alk})_n\text{R}^A$

(ここで、

Alk は、任意に置換されていてもよい二価のアルキレン、アルケニレン又はアルキニレン基であり

n は0又は1であり、

R^B は、水素又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキル又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルケニル基であり、

R^A は、ヒドロキシ又は任意に置換されていてもよい炭素環若しくは複素環であり、

50

或いは、 R^A 及び R^B は、これらが結合している窒素と一緒にあって、O、S及びNから選択される1又はそれ以上の追加のヘテロ原子を任意に含有していてもよく且つ1又はそれ以上の環C又はN原子上で任意に置換されていてもよいN-複素環を形成する)のカルボキサミド基である請求項1～8のいずれか1項に記載の使用。

【請求項13】

Alk が、任意に置換されていてもよい $-CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH=CH-$ 又は $-CH_2CCCH_2-$ 基であり、

n は0又は1であり、

R^B は、水素、メチル、エチル、 n -若しくはイソ-プロピル又はアリルであり、

R^A は、ヒドロキシ、又はヒドロキシ及び/若しくはクロロ-置換されたフェニル、3,4-メチレンジオキシフェニル、ピリジル、フリル、チエニル、N-ピペラジニル若しくはN-モルホリニルであり、

或いは、 R^A 及び R^B は、これらが結合している窒素と一緒にあって、モルホリノ、ピペリジニル、ピペラジニル又はN-フェニルピペラジニル環を形成する請求項12に記載の使用。

【請求項14】

n が0であり、 R^B が水素であり、 R^A がヒドロキシ又は任意に置換されていてもよい炭素環若しくは複素環である請求項12に記載の使用。

【請求項15】

R_1 が水素である請求項1～14のいずれか1項に記載の使用。

【請求項16】

R_1 が水素以外であり、これが結合している炭素中心での立体化学配置がDアミノ酸のものである請求項1～14のいずれかに記載の使用。

【請求項17】

X が $-OR_i$ 又は $-NHR_i$ (ここで、 R_i は、任意にヒドロキシで置換されていてもよい $C_1 \sim C_6$ アルキル、又は第1級、第2級、第3級若しくは環式のアミノ基である)である請求項1～16のいずれか1項に記載の使用。

【請求項18】

X が $-NR_iR_j$ (ここで、 R_i 及び R_j は、これらが結合している窒素と一緒にあって、モルホリノ、ピペリジニル又はピペラジニル環(これらの環は、第2窒素上で任意に $C_1 \sim C_6$ アルキルにより置換されていてもよい)を形成する)である請求項1～16のいずれか1項に記載の使用。

【請求項19】

過剰の又は不適切なHSP90活性の阻害に有効な量の請求項1～15のいずれか1項に規定の式(I)の化合物又はその塩、水和物若しくは溶媒和物を哺乳動物に投与することを含み、哺乳動物において過剰の又は不適切なHSP90活性により媒介される疾患又は状態の処置の方法。

【請求項20】

免疫抑制のため、又はガン；ウイルス性疾患；慢性関節リウマチ、喘息、多発性硬化症、1型糖尿病、狼瘡、乾癬及び炎症性腸疾患のような炎症性疾患；嚢胞性線維症；糖尿病性網膜症、血管腫及び子宮内膜症のような血管新生に関連する疾患の処置のため、又は化学療法誘発毒性に対する正常細胞の保護のため、アポトーシスを経ないことが基礎的要因である疾患、又は心臓及び脳内におけるHsp70の上昇に起因する低酸素-虚血性傷害、スクラビー/CJD、ハンチントン病及びアルツハイマー病からの保護のための、請求項1～18のいずれか1項に記載の使用又は請求項16に記載の方法。

【請求項21】

ヒト又は動物の医薬に使用するための請求項1～18のいずれか1項に規定の式(I)の化合物又はその塩、水和物若しくは溶媒和物。

【請求項22】

請求項1～18のいずれか1項に規定の式(I)の化合物又はその塩、溶媒和物若しくは

水和物。

【請求項 2 3】

本明細書中のいずれかの実施例に記載された構造を有する化合物又はその塩、溶媒和物若しくは水和物。

【請求項 2 4】

請求項 2 2 又は 2 3 に規定の化合物を医薬的又は動物医薬的に許容可能なキャリアと共に含む医薬又は動物医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、HSP90阻害活性を有する置換ピラゾール、過剰な又は不適切なHSP90活性によって媒介される疾患(例えば、ガン)に関連する医薬における該化合物の使用、及び該化合物を含有する医薬組成物に関する。

【背景技術】

【0002】

HSP90(熱ショックタンパク質90)は、ATP依存性の細胞内分子シャペロンである。腫瘍の発現型の駆動に決定的に重要である多くのシグナル伝達経路の調節への関与のため、及びある種の生物活性天然生成物がHSP90活性を介してその効果を発揮するとの発見のため、分子シャペロンHSP90は、現在、抗ガン薬開発のターゲットと見なされている。

20

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0003】

発明の簡単な説明

本発明は、例えばガン細胞増殖の阻害のために、HSP90阻害剤としての置換ピラゾール化合物のクラスを使用することに関する。1つの環炭素原子上に芳香族置換を有し、別の環炭素原子上にアミド置換基の制限されたクラスを有する核ピラゾール環が、本発明に係る化合物の基本的な特性付ける特徴である。

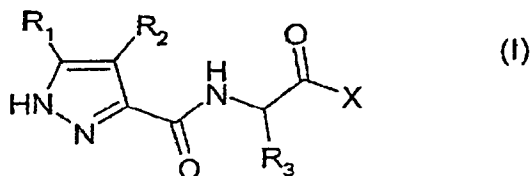
【0004】

30

発明の詳細な説明

本発明は、HSP90活性の阻害のための組成物の製造における、式(I)の化合物又はその塩、N-酸化物、水和物若しくは溶媒和物の使用を提供する：

【化1】

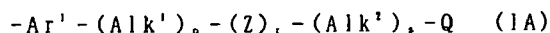


40

【0005】

【式中、

R₁ は、式 (IA) :



(ここで、任意の矛盾しない組合せで、

Ar¹ は、任意に置換していてもよいアリール又はヘテロアリール基であり、

Alk¹ 及び Alk¹ は、任意に置換していてもよい二価の C₁ ~ C₆ アルキレン又は C₂ ~ C₆ アルケニレン基であり、

p、r 及び s は、独立して 0 又は 1 であり、

Z は、-O-、-S-、-(C=O)-、-(C=S)-、-SO₂-、-C(=O)O-、-C(=O)NR^A-、-C(=S)NR^A-、-SO 50

, $\text{NR}^{\text{A}}-$, $-\text{NR}^{\text{A}}\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{NR}^{\text{A}}\text{SO}_2-$ 又は $-\text{NR}^{\text{A}}-$ (ここで、 R^{A} は、水素又は $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルである) であり、そして

Q は、水素又は任意に置換していてもよい炭素環式若しくは複素環式基である) の基であり、

【0006】

R_1 は、(i) R_1 に関して定義したとおりの式 (IA) の基；

(ii) カルボキサミド基；又は

(iii) 非芳香族炭素環又は複素環 (ここで、環炭素及び/又は環窒素は、式 $-(\text{Alk}')_p-\text{Z}-\text{Q}$ (ここで、Q、 Alk' 、 Alk' 、Z、p、r 及び s は、基 (IA) に関して上記で定義したとおりである) の基により任意に置換されていてもよい) であり；そして

10

【0007】

R_2 は、水素、又はメチル、エチル、n-若しくはイソプロピル (このいずれもがヒドロキシによって任意に置換していてもよい) であり；

【0008】

X は、 $-\text{OR}_3$ 又は $-\text{NR}_4\text{R}_5$ (ここで、 R_4 及び R_5 は、独立して、水素又は任意に置換していてもよい $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ アルキルであるか、又は R_4 及び R_5 は、これらが付着している窒素と一緒にあって、5~8 の環原子を有する任意に置換していてもよい窒素含有環を形成する) である]

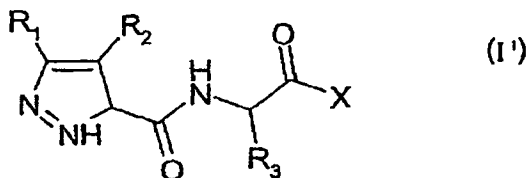
【0009】

式 (I) に関して上記で定義した化合物のクラスは概して新規であり、本発明は、このク 20
ラス並びにそれらの塩、水和物及び溶媒和物の新規なメンバーを全て含む。

【0010】

上記の構造 (I) は、当然のことながら、構造 (I') と互変性であり、本明細書においては、一方の互変体への何らかの言及は、他方の互変体を包含する；

【化2】



【0011】

本明細書中で用いられているように、

用語「カルボキシ基」は式 $-\text{COOH}$ の基をいい；

用語「カルボキシエステル基」は、式 $-\text{COOR}$ (ここで、R は、ヒドロキシ化合物 ROH に現実に又は概念的に由来する基である) の基をいい；そして

用語「カルボキサミド基」は、式 $-\text{CONR}_4\text{R}_5$ (ここで、 $-\text{NR}_4\text{R}_5$ は、アンモニア又はアミン HNR_4R_5 に現実に又は概念的に由来する第1級又は第2級 (環式を含む) アミノ基である) の基をいう。

【0012】

40

本明細書中で用いられているように、用語「($\text{C}_1 \sim \text{C}_6$) アルキル」は、1~6 の炭素原子を有する直鎖又は分枝鎖のアルキル基をいい、例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、t-ブチル、n-ペンチル及び n-ヘキシルを含む。

【0013】

本明細書中で用いられているように、用語「二価の ($\text{C}_1 \sim \text{C}_6$) アルキレン基」は、1~6 の炭素原子及び2つの満たされていない結合価を有する飽和炭化水素鎖を意味する。

【0014】

本明細書中で用いられているように、用語「($\text{C}_1 \sim \text{C}_6$) アルケニル」は、2~6 の炭素原子を有し、少なくとも1つの E 又は Z 配置の二重結合を含有する直鎖又は分枝鎖のアルケ 50

ニル基をいい、例えばエテニル及びアリルを含む。

【0015】

本明細書中で用いられているように、用語「二価の($C_1 \sim C_6$)アルケニレン基」は、2～6の炭素原子、少なくとも1つの二重結合及び2つの満たされていない結合価を有する炭化水素鎖を意味する。

【0016】

本明細書中で用いられているように、用語「($C_1 \sim C_6$)アルキニル」は、2～6の炭素原子を有し、少なくとも1つの三重結合を含有する直鎖又は分枝鎖のアルケニル基をいい、例えば、エチニル及び2-プロピニル(prop-2-ynyl)を含む。

【0017】

本明細書中で用いられているように、用語「シクロアルキル」は、3～8の炭素原子を有する飽和炭素環式基をいい、例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル及びシクロオクチルを含む。

【0018】

本明細書中で用いられているように、用語「シクロアルケニル」は、3～8の炭素原子を有し、少なくとも1つの二重結合を含有する炭素環式基をいい、例えば、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘプテニル及びシクロオクテニルを含む。

【0019】

本明細書中で用いられているように、用語「アリール」は、単環、二環又は三環の炭素環式芳香族基をいう。このような基の例示は、フェニル、ビフェニル及びナフチルである。

【0020】

本明細書中で用いられているように、用語「炭素環式」は、その環原子が全て炭素である環式基をいい、単環式アリール、シクロアルキル及びシクロアルケニル基を含む。

【0021】

本明細書中で用いられているように、用語「ヘテロアリール」は、S、N及びOから選択される1又はそれ以上のヘテロ原子を含有する単環式、二環式又は三環式の芳香族基をいう。このような基の例示は、チエニル、ベンズチエニル、フリル、ベンズフリル、ピロリル、イミダゾリル、ベンズイミダゾリル、チアゾリル、ベンズチアゾリル、イソチアゾリル、ベンズイソチアゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、ベンズオキサゾリル、イソキサゾリル、ベンズイソキサゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、ベンズトリアゾリル、チアジアゾリル、オキサジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、インドリル及びインダゾリルである。

【0022】

本明細書中で用いられているように、制限のない用語「ヘテロサイクリル」又は「複素環式」は、上記で定義したような「ヘテロアリール」を含み、特に、S、N及びOから選択される1又はそれ以上のヘテロ原子を含有する単環式、二環式又は三環式の非芳香族基を意味し、別のこのような基又は単環炭素環式基に共有結合している1又はそれ以上の前記ヘテロ原子を含有する単環式非芳香族基からなる基をもいう。このような基の例示は、ピロリル、フラニル、チエニル、ピペリジニル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、チアジアゾリル、ピラゾリル、ピリジニル、ピロリジニル、ピリミジニル、モルホリニル、ピペラジニル、インドリル、モルホリニル、ベンズフラニル、ピラニル、イソキサゾリル、ベンズイミダゾリル、メチレンジオキシフェニル、エチレンジオキシフェニル、マレイミド及びスクシンイミド基である。

【0023】

この用語が存在する文脈で特に明記されていない限り、本明細書中のいずれの部分でも適用されているように、用語「置換(された)」は、例えば、($C_1 \sim C_6$)アルキル、($C_1 \sim C_6$)アルコキシ、ヒドロキシ、ヒドロキシ($C_1 \sim C_6$)アルキル、メルカプト、メルカプト($C_1 \sim C_6$)アルキル、($C_1 \sim C_6$)アルキルチオ、ハロ(フルオロ及びクロロを含む)、トリフルオロメチル、トリフルオロメトキシ、ニトロ、ニトリル(-CN)、オキソ、フェニル、-COOH、-COO

R^A 、 $-\text{COR}^A$ 、 $-\text{SO}_2\text{R}^A$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{SO}_2\text{NH}_2$ 、 $-\text{CONHR}^A$ 、 $-\text{SO}_2\text{NHR}^A$ 、 $-\text{CONR}^A\text{R}^B$ 、 $-\text{SO}_2\text{NR}^A\text{R}^B$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}^A$ 、 $-\text{NR}^A\text{R}^B$ 、 $-\text{OCONH}_2$ 、 $-\text{OCONHR}^A$ 、 $-\text{OCONR}^A\text{R}^B$ 、 $-\text{NHCOR}^A$ 、 $-\text{NHCOOR}^A$ 、 $-\text{NR}^B\text{COOR}^A$ 、 $-\text{NH}\text{SO}_2\text{OR}^A$ 、 $-\text{NR}^B\text{SO}_2\text{OR}^A$ 、 $-\text{NHCONH}_2$ 、 $-\text{NR}^A\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NHCONHR}^B$ 、 $-\text{NR}^A\text{CONHR}^B$ 、 $-\text{NHCONR}^A\text{R}^B$ 又は $-\text{NR}^A\text{CONR}^A\text{R}^B$ (ここで、 R^A 及び R^B は、独立して、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_6)$ アルキル基である)から選択される少なくとも1つの置換基で置換されていることを意味する。用語「任意の置換基」は、前記の置換基の1つをいう。

【 0 0 2 4 】

本明細書中で用いられているように、用語「塩」は、塩基付加塩、酸付加塩及び第4級塩を含む。酸性である本発明の化合物は、水酸化アルカリ金属(例えば水酸化ナトリウム及び水酸化カリウム); 水酸化アルカリ土類金属(例えば水酸化カルシウム、水酸化バリウム及び水酸化マグネシウム)のような塩基; 有機塩基(例えばN-エチルピペリジン、ジベンジルアミンなど)と塩(医薬的に又は動物医薬的に許容される塩を含む)を形成できる。塩基性である化合物(I)は、無機酸(例えば、塩酸若しくは臭化水素酸のようなハロゲン化水素酸、硫酸、硝酸又はリン酸など)と、そして有機酸(例えば、酢酸、酒石酸、コハク酸、フマル酸、マレイン酸、リンゴ酸、サリチル酸、クエン酸、メタンスルホン酸及びp-トルエンスルホン酸など)と塩(医薬的又は動物医薬的に許容される塩を含む)を形成できる。

【 0 0 2 5 】

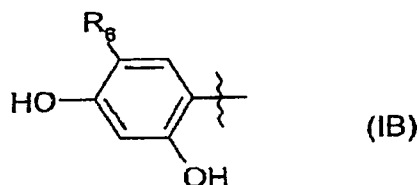
本発明のいくつかの化合物は、不斉炭素原子の存在により、1又はそれ以上の現実の又は潜在的なキラル中心を含有する。いくつかの不斉炭素原子の存在により、各キラル中心でR又はS立体配置を有する多くのジアステレオ異性体が生じる。本発明は、このようなジアステレオ異性体及びこれらの混合物を全て含む。

【 0 0 2 6 】

R_1 基

本発明の1つの実施形態では、 R_1 は、式(1B)：

【 化 3 】

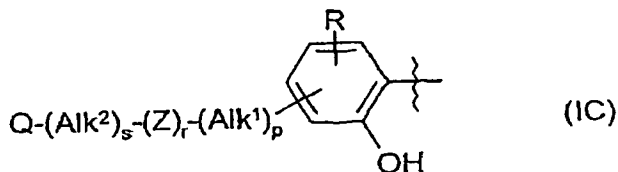


[式中、 R_8 は、クロロ、ブロモ、 $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキル又はシアノである]を有する。

【 0 0 2 7 】

別の実施形態では、 R_1 は、式(1C)：

【 化 4 】



[式中、 Alk^1 、 Alk^2 、 p 、 r 、 s 、 Z 及び Q は、式(1A)に関して請求項1で定義したとおりであり、 R は、1又はそれ以上の任意の置換基を表す]を有する。この場合、 R は、フェニル環の4位で $-\text{OH}$ であり、置換基 $-(\text{Alk}^1)_p-(Z)_r-(\text{Alk}^2)_s-Q$ は、フェニル環の5位にあることが、現在のところ好ましい。(1C)型の構造の1つのクラスでは、 r は0であり、 Q は水素又は任意に置換されていてもよいフェニルであり、これらの場合において、 s は0であり得、 p は1であり得、 Alk^1 は、未置換で二価の $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルキレン又は $\text{C}_1\sim\text{C}_6$ アルケニレン基(例えば、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 又は $-\text{CH}=\text{CH}-$)であり得る。(1C)型の構造の別のクラスでは、 p 、 r 及び s は各々0であり得、 Q は任意に置換されていてもよい

フェニルであり得る。

【0028】

R₁ 基

R₁ が (i) タイプ、すなわち式 (IA) の基である場合、例として、フェニル、2-、3-若しくは4-ピリジル、2-若しくは3-フラニル、2-若しくは3-チエニル及びチアゾリル(ここで、任意の置換基には、「置換」の定義において上記で列挙した置換基のいずれか、例えばメトキシ、エトキシ、メチレンジオキシ、エチレンジオキシ、フルオロ、クロロ、ブロモ及びトリフルオロメチルが含まれる)が挙げられる。R₁ が4位でC₁~C₆アルコキシ(例えばメトキシ又はエトキシ)、フルオロ、クロロ、ブロモ、モルホリノメチル、ピペラジノ、N-メチルピペラジノ又はピペリジノによって置換されているフェニルである化合物 10
 が、現在のところ好ましい。また、R₁ が任意に置換されていてもよいC₁~C₆アルキル(例えば、任意に置換されていてもよいメチル、エチル、n-プロピル又はイソ-プロピル)により4位で置換されているフェニルである化合物も好ましい。加えて、R₁ が任意に置換されていてもよいモルホリノC₁~C₆アルキル-、チオモルホリノC₁~C₆アルキル-、ピペラジノC₁~C₆アルキル-、メチルピペラジノC₁~C₆アルキル-又はジエチルアミノにより4位で置換されているフェニルである化合物が好ましい。さらに、R₁ が-NH₂、-NHR^A、-NR^AR^B、-NHCOR^A、-NHCOOR^A、-NR^BCOOR^A、-NHSO₂OR^A、-NR^BSO₂OR^A、-NHCONH₂、-NR^ACONH₂、-NHCONHR^B、-NR^ACONHR^B、-NHCONR^AR^B又は-NR^ACONR^AR^B(ここで、R^A及びR^Bは独立して、(C₁~C₆)アルキル基である)により4位で置換されているフェニルである化合物が好ましい。なおさらに、R₁ が任意に置換されていてもよいピペリジノ、ピペラジノ、モルホリノ又はチオモルホリ 20
 ノにより4位で置換されているフェニルである化合物が好ましい。

【0029】

R₁ が上記(ii)タイプのカルボキサミド基であるとき、例として、式-CONR^B(Alk)、R^Aが挙げられる(ここで、

【0030】

Alkは、二価のアルキレン、アルケニレン又はアルキニレン基、例えば-CH₂-、-CH₂CH₂-、-CH₂CH₂CH₂-、-CH₂CH=CH-又は-CH₂CCCH₂-基であり、Alk基は任意に置換されていてもよく、

n は0又は1であり、

R^B は、水素又はC₁~C₆アルキル又はC₁~C₆アルケニル基、例えばメチル、エチル、n- 30
 若しくはイソ-プロピル又はアリルであり、

R^A は、ヒドロキシ、又は任意に置換されていてもよい炭素環、例えばヒドロキシ及び/又はクロロ-置換フェニル及び3,4メチレンジオキシフェニル; 又はヘテロサイクリル、例えばピリジル、フリル、チエニル、N-ピペラジニル又はN-モルホリニルであり、これらの複素環のいずれも置換されていてもよく、

【0031】

或いは、R^A及びR^Bは、これらが結合している窒素と一緒にあって、O、S及びNから選択される1又はそれ以上の追加のヘテロ原子を任意に含有していてもよく且つ1又はそれ以上の環C又はN原子上で任意に置換されていてもよいN-複素環を形成する(このようなN-複素環の例としては、モルホリノ、ピペリジニル、ピペラジニル及びN-フェニルピペラジニルが挙げられる))。 40

【0032】

R₂ 基

R₂ は水素又はメチルであることが現在のところ好ましい。また、R₂ が水素以外であるとき、これが結合している炭素中心での立体化学配置は、Dアミノ酸のものであることが好ましい。

【0033】

X 基

本発明に係る化合物の1つの好ましいクラスにおいて、Xは、-OR₁又は-NHR₁である(ここで、R₁は、任意にヒドロキシで置換されていてもよいC₁~C₆アルキル、又は第1級、第 50

2級、第3級若しくは環式のアミノ基(例えばモルホリノ、ピペリジニル又はピペラジニル基)であり、後者は第2の窒素上で任意にC₁～C₆アルキルにより置換されていてもよい)。

【0034】

別の好ましいクラスでは、Xは、-NR₁R₂である(ここで、R₁及びR₂は、これらが結合している窒素と一緒に、モルホリノ、ピペリジニル又はピペラジニル環(これらは、第2窒素上で任意にC₁～C₆アルキルにより置換されていてもよい)を形成する)。

【0035】

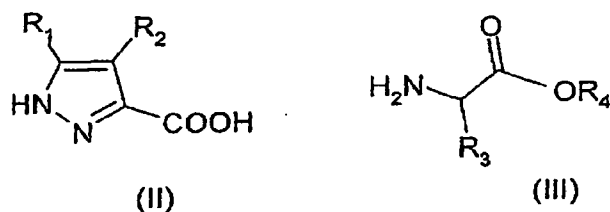
本発明に係る具体的化合物としては、実施例のものが含まれる。

本発明に係る化合物は、文献の方法(例えば、本明細書中の予備的な実施例に記載の方法及びこれに類似する方法)によって製造されてもよい。

【0036】

したがって、Xが-OR₄である式(I)の化合物は、式(II)のカルボン酸を式(III)のアミノ酸とカップリングさせることにより製造してもよい。

【化5】



20

【0037】

Xが-OHである式(I)の化合物は、エステル化合物(III)の加水分解により製造してもよい。この化合物は、アミンHNR₁R₂と縮合させてXが-NR₁R₂である式(I)の化合物を製造してもよい。

【0038】

本発明の化合物はHSP90の阻害剤であり、したがって過剰の又は不適切なHSP90活性によって媒介される疾患(例えばガン)；C型肝炎(HCV)のようなウイルス性疾患(Waxman, 2002)；例えば移植時における、免疫抑制(Bijlmakers, 2000及びYorgin, 2000)；慢性関節リウマチ、喘息、多発性硬化症(MS)、I型糖尿病、狼瘡、乾癬及び炎症性腸疾患のような抗炎症性疾患(Bucci, 2000)；嚢胞性線維症(Fuller, 2000)；血管新生に関連する疾患(Hur, 2002及びKurebayashi, 2001)；糖尿病性網膜症、血管腫、乾癬、子宮内膜症及び腫瘍血管新生の処置に有用である。

【0039】

本発明のHsp90阻害剤はまた、化学療法誘発毒性に対して正常細胞を保護し得、そしてアポトーシスを経ないことが基礎的要因である疾患に有用であり得る。このようなHsp90阻害剤はまた、細胞ストレス又は熱ショックタンパク質応答に誘導される疾病において有用であり得、例えば、心臓(Hutter, 1996及びTrosl, 1998)及び脳内(Plumier, 1997及びRajder, 2000)におけるHsp70の上昇に起因する低酸素-虚血性傷害からの保護に有益であり得る。Hsp90阻害剤はまた、タンパク質のミスフォールディング又は凝集が主要な原因因子である疾患、例えばスクラビー/CJD、ハンチントン病及びアルツハイマー病(Sittler, 2001；Trazell, 1995及びWinklhofer, 2001)において有用であり得る。

【0040】

したがって、本発明はまた：

(i) 哺乳動物(特にヒト)において過剰の又は不適切なHSP90活性により媒介される疾患又は状態の処置の方法であって、上記で定義したような式(I)の化合物又はその塩、水和物若しくは溶媒和物の、該HSP90活性の阻害に有効な量を哺乳動物に投与することを含む方法；及び

(ii) ヒト又は動物の医薬、特に過剰の又は不適切なHSP90活性により媒介される疾患又は

50

状態の処置に使用するための、上記で定義したような式(I)の化合物又はその塩、水和物若しくは溶媒和物

を提供する。

【0041】

任意の特定の患者に対する具体的な用量レベルは、用いられる具体的化合物の活性、年齢、体重、身体全体の健康、性別、食事、投与時間、投与経路、排泄速度、薬の組合せ、並びに治療を受ける特定の疾患の原因となる機序及び重篤度を含む種々の要因に依存することが理解される。

一般に、経口投与可能な製剤に適切な用量は、通常、1日当り1回、2回又は3回で、0.1~3000 mgの範囲であるか、又は注入若しくは他の経路により投与される当該1日量に等しい量である。しかし、最適な用量レベル及び投薬頻度は、当該分野で慣例の臨床試験によって決定される。

【0042】

本発明に係る化合物は、その薬物動態特性と合致するいずれか経路による投与のために調製できる。経口投与可能な組成物は、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、トローチ剤、液体又はゲル製剤(例えば、経口用、局所用又は無菌非経口用溶液若しくは懸濁液)の形態であり得る。経口投与のための錠剤及びカプセル剤は、単位用量提示形態であり得、通常の賦形剤、例えば結合剤(例えばシロップ、アラビアゴム、ゼラチン、ソルビトール、トラガcant又はポリビニルピロリドン); 充填剤(例えば乳糖、砂糖、トウモロコシデンプン、リン酸カルシウム、ソルビトール又はグリシン); 打錠滑沢剤(例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール又はシリカ); 崩壊剤(例えばバレイショデンプン)又は許容される湿潤剤(例えばラウリル硫酸ナトリウム)を含有してもよい。錠剤は、通常の製薬実務で周知の方法によりコーティングされてもよい。

【0043】

経口液体製剤は、例えば水性若しくは油性の懸濁液、溶液、乳液、シロップ若しくはエリキシルの形態であってもよいし、又は使用前に水若しくは他の適切なビヒクルで再構成する乾燥生成物として提供されてもよい。このような液体製剤は、通常の添加剤、例えば懸濁剤(例えばソルビトール、シロップ、メチルセルロース、グルコースシロップ、ゼラチン、食用硬化油脂); 乳化剤(例えばレシチン、ソルビタンモノオレエート又はアラビアゴム); 非水性ビヒクル(食用油を含み得る)(例えばアーモンド油、ヤシ油、グリセリンのような油状エステル、プロピレングリコール又はエチルアルコール); 防腐剤(例えばメチル若しくはプロピルp-ヒドロキシベンゾエート又はソルビン酸)、及び所望により通常の芳香剤又は着色剤を含有してもよい。

【0044】

皮膚に対する局所適用のために、薬物はクリーム、ローション又は軟膏にされ得る。薬物のために使用され得るクリーム又は軟膏の製剤は、例えば英国薬局方のような製剤学の標準的な教科書に記載されているように、当該分野において周知の通常の製剤である。

【0045】

活性成分はまた、無菌媒体中で非経口的に投与され得る。使用するビヒクル及び濃度に依存して、薬物はビヒクルに懸濁させるか又は溶解させることができる。有利には、ビヒクル中に、局所麻酔剤のような補助剤、防腐剤及び緩衝剤を溶解することができる。

【0046】

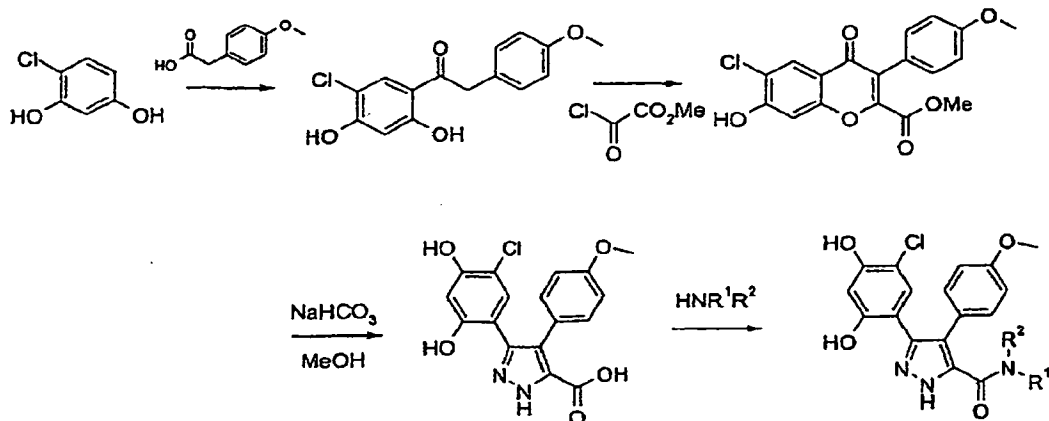
以下の実施例は、本発明の具体的化合物の製造及び活性を説明する。

【実施例】

【0047】

実験の部

【化 6】



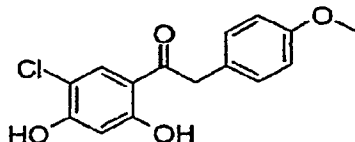
10

【 0 0 4 8 】

スキーム 1 : 5-アミドの製造のための一般スキーム

1-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-2-(4-メトキシ-フェニル)-エタノン

【化 7】



20

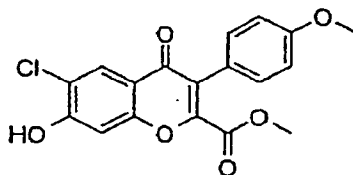
4-クロロレゾルシノール (1 当量) 及びパラ-メトキシフェニル酢酸 (1 当量) を三フッ化ホウ素ジエチルエーテル化合物 (5 当量) 中で合わせ、窒素下で 90℃ まで 3 時間加熱した。反応物を室温まで冷却させ、次いで 10% NaOAc (水溶液) に滴下して加えた。混合物を一晩静置し、生じた固体を真空濾過により集めた。固体を真空下で乾燥させて、1-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-2-(4-メトキシ-フェニル)-エタノンを得た。

LC/MC 保持時間 2.485 分 $[M+H]^+$ 293.2/295.2 塩素分割パターン。

【 0 0 4 9 】

6-クロロ-7-ヒドロキシ-3-(4-メトキシ-フェニル)-4-オキソ-4H-クロメン-2-カルボン酸メチルエステル

【化 8】



30

1-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-2-(4-メトキシ-フェニル)-エタノン (1 当量) を無水ピリジン中に取り、氷浴上で 0℃ まで冷却した。メチルクロロオキソアセテート (3 当量) を滴下して加え、溶液に栓をして一晩冷蔵庫中に静置した。

40

【 0 0 5 0 】

明るい橙色の溶液を、100ml 1 M HCl (水溶液) に注意深く加え、2 × 70ml DCM 中に抽出させた。有機相を合わせ、2 × 50ml 塩水で洗浄した。全てを真空中で濃縮して黄色固体を得た。これを、1 M HCl (水溶液) とメタノールとの 1 : 1 混合物中に懸濁した。全てを還流にて 4 時間加熱した。冷却させた。

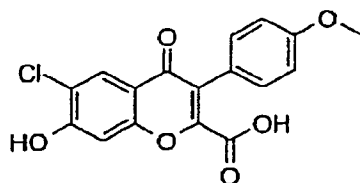
反応混合物を真空中で濃縮して、淡黄色固体として 6-クロロ-7-ヒドロキシ-3-(4-メトキシ-フェニル)-4-オキソ-4H-クロメン-2-カルボン酸メチルエステルを得た。

LC 保持時間 2.423 分 $[M+H]^+$ 361.2/363.2 塩素分割パターン。

50

【 0 0 5 1 】

6-クロロ-7-ヒドロキシ-3-(4-メトキシ-フェニル)-4-オキソ-4H-クロメン-2-カルボン酸
【化 9】

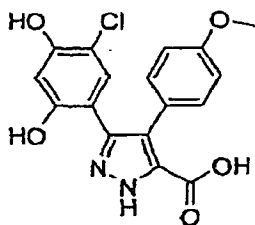


6-クロロ-7-ヒドロキシ-3-(4-メトキシ-フェニル)-4-オキソ-4H-クロメン-2-カルボン酸 10
酸メチルエステルを、飽和 NaHCO_3 (水溶液) : メタノールの 2 : 1 混合物中に取り、全てを
65℃で5時間加熱した。溶液を室温まで冷却し、真空中で濃縮してメタノールを除去した。
残渣の水溶液を 1 M HCl (水溶液) で酸性化し、黄褐色の沈殿物を溶液から取り出した。
これを、真空濾過により集め、水、及びジエチルエーテルで洗浄して、6-クロロ-7-ヒド
ロキシ-3-(4-メトキシ-フェニル)-4-オキソ-4H-クロメン-2-カルボン酸を得た。

LC保持時間 1.814分 347.2/349.2 塩素分割パターン。

【 0 0 5 2 】

5-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-4-(4-メトキシ-フェニル)-2H-ピラゾール-3-
カルボン酸 20
【化 10】



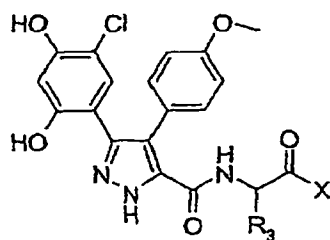
6-クロロ-7-ヒドロキシ-3-(4-メトキシ-フェニル)-4-オキソ-4H-クロメン-2-カルボン 30
酸 (1 当量) をエタノール中に取り、ヒドラジン水和物 (3 当量) を加えた。溶解を助けるた
め、数滴の NaHCO_3 (水溶液) を加え、次いで全てを窒素下で 70℃ にて 2 時間加熱した。溶液
を室温まで冷却し、真空中で褐色油に濃縮した。これを、1 M HCl (水溶液) とジエチルエ
ーテルとの間で分配する。有機相を合わせ、1 M HCl (水溶液) で洗浄し、 MgSO_4 上で乾燥
させ、真空中で濾過及び濃縮して、黄色の泡として 5-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェ
ニル)-4-(4-メトキシ-フェニル)-2H-ピラゾール-3-カルボン酸を得た。

LC保持時間 2.020分 $[\text{M}+\text{H}]^+$ 361.2/363.2 塩素分割パターン。

【 0 0 5 3 】

アミドの一般的合成

【化 11】



40

方法 1

5-(5-クロロ-2,4-ジヒドロキシ-フェニル)-4-(4-メトキシ-フェニル)-2H-ピラゾール-3-
カルボン酸 (1 当量) を、無水ジクロロメタン中に懸濁物として取った。得られた溶液を
窒素下で 0℃ に冷却した。1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物 (3 当量) を加え、続い 50

てN-メチルモルホリン(10当量)、N-エチル-N'-(3ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドHCl(3当量)及びアミン(2当量)を加えた。全てを室温まで一晩撹拌した。得られた溶液をジクロロメタンで希釈し、1 M HCl(水溶液)、飽和NaHCO₃(水溶液)及び飽和NaCl(水溶液)で抽出させ、次いでMgSO₄上で乾燥させ、真空中で濾過及び濃縮した。残渣を分取(p reparative)LC/MSにより精製してアミド生成物を得た。

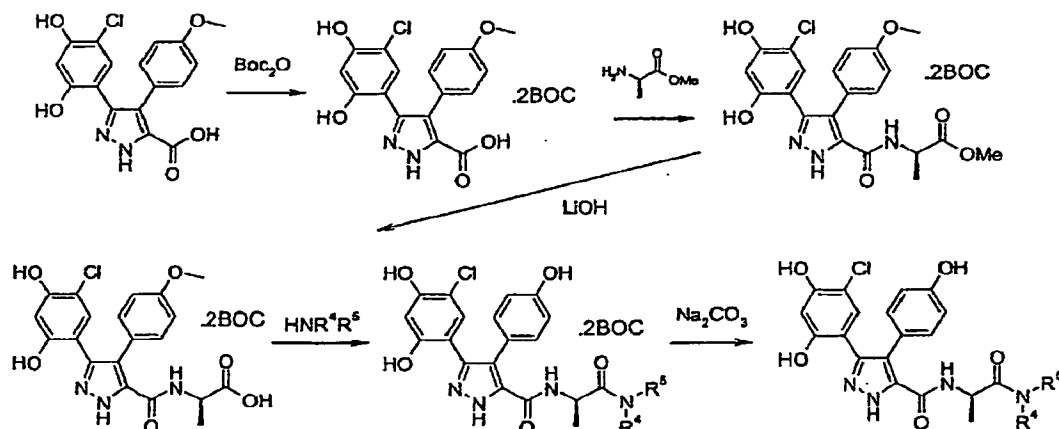
【 0 0 5 4 】

方法 2

前記酸(1当量)を無水ジクロロメタン中に取り、溶液を窒素下で0℃まで冷却した。トリエチルアミン(6当量)を加え、続いて4-(ジメチルアミノ)ピリジン(0.5当量)を加えた。無水ジクロロメタン中の溶液としてのジ-tert-ブチルジカルボネート(3当量)を、30分間にわたって滴下して加え、続いて前記アミン(2当量)を加えた。反応混合物を室温にて2時間撹拌した。反応混合物を1 M HCl(水溶液)で洗浄し、次いで塩水で洗浄し、MgSO₄上で乾燥させた。溶液を真空中で濾過及び濃縮した。

この粘性物質(gum)をメタノール中に溶解した。過剰な1 M Na₂CO₃(水溶液)を加え、溶液を窒素下に80℃まで8時間加熱し、次いで室温に冷却して戻した。残渣を分取LC/MSにより精製した。

【 化 1 2 】



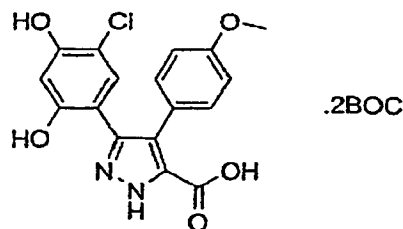
20

【 0 0 5 5 】

スキーム 2 : 5 -位伸長アミドの合成

方法 3

【 化 1 3 】

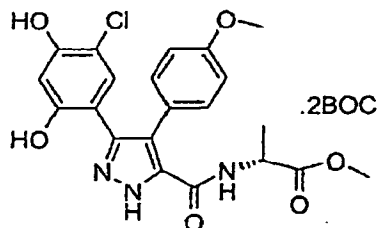


40

前記酸(1当量)を無水ジクロロメタン中に取り、溶液を窒素下で0℃まで冷却した。トリエチルアミン(6当量)を加え、続いて4-(ジメチルアミノ)ピリジン(0.5当量)を加えた。無水ジクロロメタン中の溶液としてのジ-tert-ブチルジカルボネート(3当量)を、30分間にわたって滴下して加えた。反応混合物を室温にて2時間撹拌した。反応混合物を1 M HCl(水溶液)で洗浄し、次いで塩水で洗浄し、MgSO₄上で乾燥させた。溶液を真空中で濾過及び濃縮した。

LC/MS保持時間2.86分 [M-Boc]⁺ 505.4/507.4 塩素分割パターン。

【化 1 4】

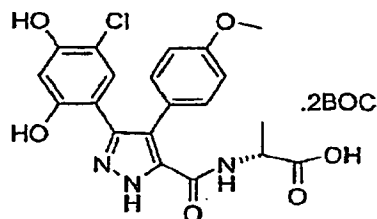


【 0 0 5 6】

このカルボン酸(1当量)を無水ジクロロメタンに溶解させた。得られた溶液を窒素下で 10℃まで冷却した。1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物(3当量)を加え、続いてN-メチルモルホリン(8当量)、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドHCl(3当量)及びH-D-ALA-OMe.HCl(2当量)を加えた。全てを室温まで一晩攪拌した。得られた溶液をジクロロメタンで希釈し、1 M HCl(水溶液)、飽和NaHCO₃(水溶液)及び飽和NaCl(水溶液)で抽出させ、次いでMgSO₄上で乾燥させ、真空中で濾過及び濃縮し、フラッシュクロマトグラフィーにより精製した(1% MeOH-DCMで溶出)。

LC/MC保持時間2.97分 [M-H]⁺ 646.5/648.5 塩素分割パターン。

【化 1 5】



20

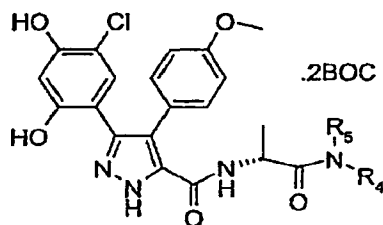
【 0 0 5 7】

前記エステル(1当量)を水:1,4-ジオキサンの1:1溶液の中にとった。1 M LiOH(水溶液)を加え、全てを窒素下にて90分間室温にて攪拌した。

反応混合物を水で希釈し、ジエチルエーテルで洗浄した。水性相を1 M HCl(水溶液)で酸性化し、ジクロロメタン中に抽出させた。有機相をMgSO₄上で乾燥させ、真空中で濾過 30 及び濃縮して、泡としてカルボン酸を得た。

LC/MC保持時間2.851分 632.5/634.5

【化 1 6】

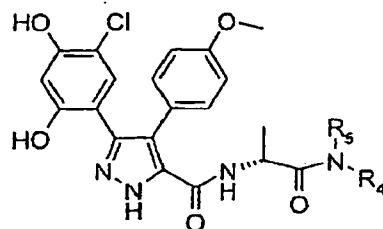


40

【 0 0 5 8】

前記カルボン酸(1当量)を無水ジクロロメタン中に溶解した。得られた溶液を窒素下で 0℃まで冷却した。1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物(3当量)を加え、続いてN-メチルモルホリン(8当量)、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドHCl(3当量)及びアミン(2当量)を加えた。全てを室温まで一晩攪拌した。得られた溶液をジクロロメタンで希釈し、1 M HCl(水溶液)、飽和NaHCO₃(水溶液)及び飽和NaCl(水溶液)で抽出させ、次いでMgSO₄上で乾燥させ、真空中で濾過及び濃縮し、フラッシュクロマトグラフィーにより精製した(1% MeOH-DCMで溶出)。

【化 17】



【0059】

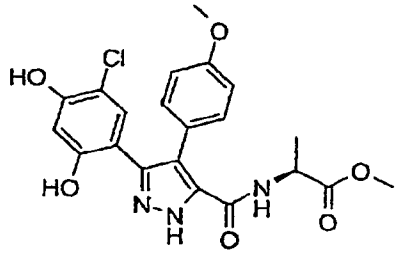
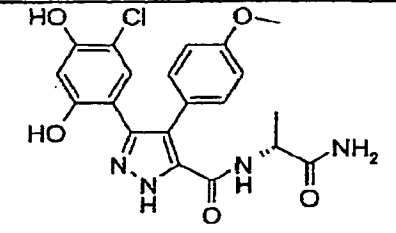
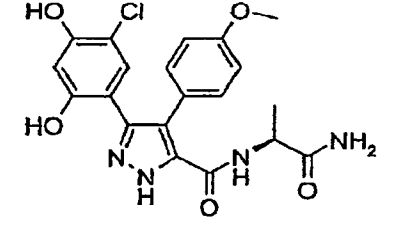
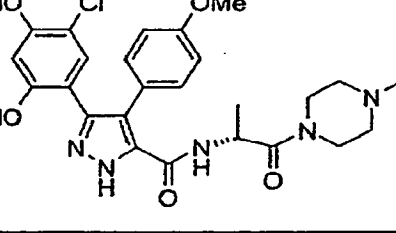
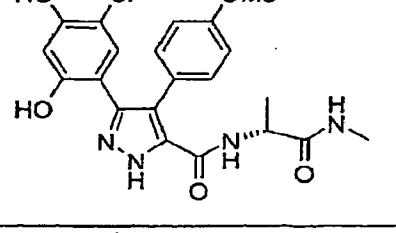
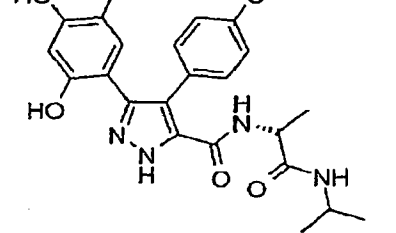
この粘性物質 (gum) をメタノール中に溶解した。過剰な 1 M Na₂CO₃ (水溶液) を加え、溶液を窒素下に 80℃ まで 8 時間加熱し、次いで室温に冷却して戻した。残渣を分取 LC/MS により精製した。

【0060】

【表 1】

実施例	構造	MH+	合成についての コメント	Hsp90 FP IC ₅₀ §
3		445 447	方法1による Rac-Ala-メチル エステル.HCl	A
4		432 434	6:1のMeOH:5% NaOH(水溶液)中にお ける室温での実施例3 の酸化	A
6		432 434	方法1による グリシンメチル エステル.HCl	A
7		446 448	方法1による H-D-ALA-OMe.HCl	A

【表 2】

8		446 448	方法1による H-ALA-OMe.HCl	A
9		431 433	方法1による H-D-ALA-NH ₂ .HCl	A
10		431 433	方法1による H-ALA-NH ₂ .HCl	A
12		514 516	方法3による メチルピペラジン	A
13		445 447	方法3による メチルアミン	A
14		473 775	方法3による イソプロピルアミン	A

10

20

30

40

【表 3】

15		502 504	方法3による ジメチルアミノ エチルアミン	A
16		544 546	方法3による モルホリノ-N- エチルアミン	A
18		459 461	方法3による エチルアミン	A

§ 'A' = 下記の蛍光偏光アッセイにおけるIC50 <10uM

10

20

30

40

【 0 0 6 1 】

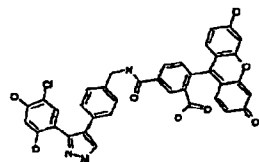
蛍光偏光アッセイ

蛍光偏光[蛍光異方性としてもまた知られる]は、溶液中の蛍光種の旋光度を測定する。ここで、分子が大きいほど、蛍光発光は偏光する。蛍光体が偏光した光で励起されると、発せられる光も偏光する。分子サイズは、蛍光発光の偏光に正比例する。フルオロセイン標識プローブ(RBT0045864-FAM)は、HSP90[完全長ヒト、完全長酵母又はN末端ドメインHSP90]に結合し、異方性[プローブ-タンパク質複合体の旋光度]が測定される。

【 0 0 6 2 】

化合物をアッセイプレートに加え、平衡にさせ、異方性を再度測定する。異方性の何らかの変化は、HSP90への化合物の競合的結合によるプローブの遊離に起因する。

【化 1 8】



RBT0045864-FAM

材料

化学物質は、商業的に入手可能な最高級の純度のものであり、全ての水溶液は、AR水で作製される。

1) Costar96ウェルブラックアッセイプレート#3915

2) (a)100mM Tris pH7.4; (b)20mM KCl; (c)6mM MgCl₂のアッセイ緩衝液。室温にて貯蔵。

3) BSA(ウシ血清アルブミン)10mg/ml(New England Biolabs #B9001S)

4) 100% DMSO貯蔵濃度で20mM RBT0045864(ピラゾール)。RTにて暗所中で貯蔵。自家製、K_d 200μM(使用するタンパク質に依存して)。実効濃度は、AR水に希釈した200nMであり、4℃にて貯蔵。アッセイ中の最終濃度80nM。

5) E.coli発現ヒト完全長HSP90タンパク質。95%より高い純度に精製(例えば、Panarello *et al.*, EMBO J., Vol.17, pp.4829-4836, 1998)及び-80℃にて50μLアリコートで貯蔵。

【0063】

プロトコル

1) ウェル11A及び12A(=FP BLNK)に100μl 1×緩衝液を添加。

2) アッセイミックスを調製。プローブは光感受性であるので、バケットに蓋をして、全ての反応剤を氷上に維持する。

i. 最終濃度^a

・ 1×Hsp90 FP緩衝液	10 ml	1 ×
・ BSA 10mg/ml(NEB)	5.0 μl	5 μg/ml
・ プローブ 200μM	4.0 μl	80nM
・ ヒト完全長Hsp90	6.25 μl	200nM

3) 他の全てのウェルに100μlアッセイミックスを分注。

4) プレートを密封し、暗所で室温にて20分間放置して平衡化。

【0064】

化合物希釈プレート-1×3希釈系列

1) 透明な96ウェルV底プレート[#VWR007/008/257]において、10μlの100% DMSOをウェルB1~H11に加える

2) ウェルA1~A11に、17.5μlの100% DMSOを加える

3) A1に2.5μlのcpdを加える。これにより2.5mM[50×]貯蔵cpdを得る(cpdを20mMと仮定して)。

4) ウェルA2~A10について繰り返す。列11及び12にはコントロール。

5) 行Aから行Bに5μl移す(列12は除く)。ウェルを混合する。

6) 行Bから行Cに5μl移す。ウェルを混合する。

7) 行Gまで繰り返す。

8) 行H(これが0行である)には化合物を加えない。

9) これにより、50μMから0.07μMまでの1×3希釈系列が作成される。

10) ウェルB12において、20μlの100μM標準化合物を調製する。

11) 第1のインキュベーション後、アッセイプレートをFusion(商標)a-FPプレートリーダー(Packard BioScience, Pangbourne, Berkshire, UK)上で読み取る。

12) 第1の読み取り後、2μlの希釈化合物を列1~10について各ウェルに加える。列11[標準曲線を提供する]には、化合物B11~H11のみを加える。2μlの100mM標準cpdをウェルB12~H12[陽性コントロールである]に加える。

0 コントロール及び陽性ウェルからZ'因子を算出する。これは、代表的には、0.7~0.9の値を与える。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/GB2004/001740
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K31/415 C07D231/14 C07K5/078 A61P35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07D		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 02/36075 A (SLOAN KETTERING INST CANCER ; ROSEN NEAL (US); CHIOSIS GABRIELA (US)) 10 May 2002 (2002-05-10) the whole document	1-24
P, X	WO 03/055860 A (CANCER RES TECHNOLOGY LTD ; DRYSDALE MARTIN JAMES (GB); PEARL LAURENCE) 10 July 2003 (2003-07-10) page 36, line 8 - line 16; claim 1 page 90, line 23 - page 91, line 2 page 112, line 11 - line 13 page 232, line 12 - page 235, line 4	1-24
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents * A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance * E* earlier document but published on or after the international filing date * L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) * O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means * P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed * T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention * X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone * Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art * Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 19 July 2004		Date of mailing of the international search report 26/07/2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Seymour, L

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2004/001740**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim 19 is directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/6B2004/001740

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0236075	A	10-05-2002	AU 2877102 A	15-05-2002
			CA 2426952 A1	10-05-2002
			EP 1335920 A2	20-08-2003
			JP 2004514660 T	20-05-2004
			WO 0236075 A2	10-05-2002
WO 03055860	A	10-07-2003	WO 03055860 A1	10-07-2003

フロントページの続き

(51) Int. Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P	31/12	(2006. 01)	A 6 1 P 31/12
A 6 1 P	37/06	(2006. 01)	A 6 1 P 37/06
A 6 1 P	19/02	(2006. 01)	A 6 1 P 19/02
A 6 1 P	29/00	(2006. 01)	A 6 1 P 29/00 1 0.1
A 6 1 P	11/06	(2006. 01)	A 6 1 P 11/06
A 6 1 P	25/00	(2006. 01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P	3/10	(2006. 01)	A 6 1 P 3/10
A 6 1 P	17/00	(2006. 01)	A 6 1 P 17/00
A 6 1 P	17/06	(2006. 01)	A 6 1 P 17/06
A 6 1 P	1/04	(2006. 01)	A 6 1 P 1/04
A 6 1 P	9/14	(2006. 01)	A 6 1 P 29/00
A 6 1 P	9/10	(2006. 01)	A 6 1 P 9/14
A 6 1 P	27/02	(2006. 01)	A 6 1 P 9/10
A 6 1 P	15/00	(2006. 01)	A 6 1 P 27/02
A 6 1 P	39/00	(2006. 01)	A 6 1 P 15/00
A 6 1 P	25/14	(2006. 01)	A 6 1 P 39/00
A 6 1 P	25/28	(2006. 01)	A 6 1 P 25/14
A 6 1 P	43/00	(2006. 01)	A 6 1 P 25/28
A 6 1 K	31/496	(2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
			A 6 1 K 31/496

(81) 指定国 AP (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(71) 出願人 505401654

キャンサー リサーチ テクノロジー リミテッド

CANCER RESEARCH TECHNOLOGY LTD.

イギリス、ロンドン ダブリュシー2エー 3ピーエックス、リンカーンズ イン フィールドズ 61

61 Lincoln's Inn Fields, London WC2A 3PX, United Kingdom

(71) 出願人 504236178

ジ インスティテュート オブ キャンサー リサーチ

THE INSTITUTE OF CANCER RESEARCH

イギリス、ロンドン エスダブリュ7 3アールビー、オールド ブロンプトン ロード 123、ロイヤル キャンサー ホスピタル

Royal Cancer Hospital, 123 Old Brompton Road, London SW7 3RP, United Kingdom

(74) 代理人 100065248

弁理士 野河 信太郎

(72) 発明者 バリルーアロンソ、グザヴィエ

イギリス、ケンブリッジ シービー1 6ジービー、アピントン、グランタ パーク (番地なし)、ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド

- (72)発明者 デイモック, ブライアン, ウィリアム
イギリス、ケンブリッジ シービー1 6 ジービー、アピントン、グランタ パーク (番地なし)
、ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド
- (72)発明者 ドライスデール, マーティン, ジェームス
イギリス、ケンブリッジ シービー1 6 ジービー、アピントン、グランタ パーク (番地なし)
、ヴァーナリス (ケンブリッジ) リミテッド

Fターム(参考) 4C086 AA01 AA02 AA03 BC36 BC50 BC73 GA07 GA09 GA12 GA16
MA01 MA04 NA14 ZA01 ZA15 ZA16 ZA33 ZA36 ZA44 ZA59
ZA81 ZA89 ZA96 ZB08 ZB11 ZB13 ZB15 ZB26 ZB33 ZC02
ZC35 ZC37 ZC41